

Алиева Т.Р., Аллахвердиева Л.И.

## **Сравнительная характеристика уровня гистамина и иммуноглобулинов класса E и G в крови и лимфе при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Артюса**

Азербайджанский медицинский университет, Азербайджан AZ1022, г. Баку, ул. Бакиханова, д. 23

*Изучены изменения содержания гистамина и уровней иммуноглобулинов E, G в крови и лимфе при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Артюса. Эксперименты проведены на 27 кроликах породы «Шиншилла» в двух сериях. Контролем служили исследуемые показатели концентрации гистамина и уровней IgE и IgG в крови и лимфе интактных животных. Результаты исследования показали, что при экспериментальном анафилактическом шоке наблюдается повышение уровня IgE и снижение уровня IgG. При феномене Артюса отмечается повышение уровня IgG и снижение уровня IgE, более выраженное в крови, чем в лимфе. Концентрация гистамина повышается, как при анафилактическом шоке, так и при феномене Артюса, но более выражено при анафилаксии. Повышение концентрации гистамина в крови больше, чем в лимфе.*

**Ключевые слова:** анафилактический шок; феномен Артюса; гистамин; иммуноглобулины

Alieva T.R., Allahverdieva L.I.

## **The comparative characteristic of level of histamine, IgE and IgG in blood and the lymph at the experimental anaphylactic shock and Artyus phenomenon**

Azerbaijan Medical University, st. Bakikhanova, 23, Baku

*Maintenance changes of histamine and levels of immunoglobulin E and G in blood and lymph are studied at the experimental anaphylactic and Artyus phenomenon. Experiments were conducted in two series on 27 rabbits of "Chinchilla" breed. As control are served the investigated indicators of concentration of histamine and levels of IgE and IgG in blood and lymph of intact animals. Results of research have shown that, at the experimental anaphylactic shock increase the level of IgE and decrease the level of IgG. At the Artyus phenomenon increase of level of IgG and the decrease in level of IgE more expressed in blood, than in lymph is marked. Concentration of histamine raises, both at the anaphylactic shock, and at the of Artyus phenomenon, but is more expressed at anaphylaxis, and also in blood, than in lymph.*

**Key words:** anaphylactic shock; Artyus phenomenon; histamine; immunoglobulin

К настоящему времени патогенетическая роль иммуноглобулинов класса E (IgE) при аллергических заболеваниях человека изучена достаточно хорошо и подтверждением тому служит значительное число научных исследований [1—4]. Иммуноглобулин E — ключевая молекула, определяющая особенности формирования и проявления классических аллергических состояний. Иммуноглобулин E через высокоаффинные FcεRI-рецепторы участвует в высвобождении из активированных тучных клеток и базофилов целого ряда медиаторов аллергического воспаления (гистамин, гепарин, триптаза и т.д.) [3]. Тучные клетки широко представлены в дыхательных путях, включая альвеолы легких, желудочно-кишечном тракте, коже. В организме реагирует лишь

небольшая часть сенсibilизированных IgE тучных клеток, остальные клетки ингибируются при посредстве выделившихся аллергических медиаторов, способных тормозить свое дальнейшее высвобождение.

Высвобождение медиаторов аллергического воспаления из тучных клеток тканей и базофилов крови является основной причиной развития патофизиологических проявлений аллергических реакций. Среди них важная роль принадлежит гистамину, осуществляющему свои эффекты через соответствующие рецепторы различных типов. Активация гистамина через H1-H4 рецепторы ведет к коронарной вазоконстрикции и сердечной недостаточности (H1-рецепторы), системной вазодилатации и тахикардии (H2-рецепторы), торможению высвобождения норадреналина (H3-рецепторы), хемотаксису и высвобождению медиаторов воспаления (H4-рецепторы) [4].

Гистамин является не только медиатором ранней фазы воспаления, но и возможным важнейшим фактором, участвующим в регуляции синтеза IgE, гиперпродукция которого лежит в основе atopических заболеваний. Известно, что через H1-рецепторы осуществляется положительная, а через H2-рецепторы — негативная регуляция синтеза IgE. В последнее время стало известно, что в регуляции синтеза IgE принимают участие также H3 и H4-рецепторы активирующие лимфоциты, эозинофилы и тучные клетки [5, 6]. Наличие рецепторов для гистамина на различных клетках, участвующих в иммунном ответе, и широкий спектр эффектов, опосредуемых этим медиатором, — факты, которые дали полное основание рассматривать гистамин как мощный эндогенный иммуномодулятор [5].

Ключевую роль в механизмах иммунологического распознавания чужеродных антигенов играют специфические антитела подклассов IgG, которые в процессе иммунного ответа подключают каскад клеточно-опосредованных механизмов естественной защиты организма.

Учитывая важную роль гистамина и иммуноглобулинов в патогенезе аллергических реакций, целью исследования явилось сравнительное определение уровней гистамина, IgE и IgG в крови и лимфе при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Артюса.

### Методика

Эксперименты проведены на 27 кроликах породы «Шиншилла» (масса 2,5—3 кг) в двух сериях. В первой серии (9 голов) эти показатели определены у кроликов на модели анафилактического шока, во второй (9 голов) — на модели феномена Артюса. Контролем служили исследуемые показатели гистамина, IgE и IgG в крови и лимфе интактных кроликов (9 голов). Для воспроизведения анафилактического шока кроликов сенсibilизировали путем подкожного введения 0,1 мл лошадиной сыворотки, а разрешающую дозу (1 мл) вводили в полость сердца. Для воспроизведения феномена Артюса кроликов сенсibilизировали путем подкожного введения 1 мл лошадиной сыворотки в лопаточную область кролика через каждые 5 сут. в течение 25 сут. После пятой инъекции в области введения лошадиной сыворотки наблюдался некроз.

Необходимую для опыта кровь брали из краевой вены уха кроликов, лимфу — из грудного лимфатического протока по методу А.А.Корниенко в модификации М.Х. Алиева и В.М. Мамедова [6].

Уровень гистамина определяли флюорометрическим методом, который основан на получении флуорофора

с 0,1% ортофталевым альдегидом на аппарате «Биан-130».

Определение уровней IgE и IgG в крови и лимфе животных проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА) на соответствующих тест-системах («Farming», США). Результаты исследования оценивались на полуавтоматическом анализаторе Stat-Fax-2000 (США).

При статистической обработке полученных данных применены методы описательной статистики, ранговый критерий Уилкоксона—Манна—Уитни. Среднее значение полученных выборок применено в формате  $M \pm m$  (min-max).

### Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что уровень гистамина увеличивался как при анафилактическом шоке, так и при феномене Артюса, однако при анафилактическом шоке более значимо (таблица).

Так, на стадии сенсibilизации анафилактического шока (7-е сут.) уровень гистамина в крови повышался в 1,6 раза по сравнению с интактными животными и составил  $0,79 \pm 0,04$  мМ/л. На стадии анафилактического шока (21-е сут.) отмечалось значительное повышение уровня гистамина в крови — в 3,8 раза по сравнению с интактными животными ( $1,89 \pm 0,06$  мМ/л против  $0,49 \pm 0,04$  мМ/л,  $p < 0,001$ ). Через 30 мин после шока уровень гистамина в крови снизился в 2,7 раза в сравнении с периодом шока.

После воспроизведенного анафилактического шока три животных погибло, в связи с чем кровь была взята только у 6 животных после 30 мин экспозиции анафилактического шока.

В лимфе эти показатели в сравнении с кровью были ниже. Так, если на 7-е сут. сенсibilизации уровень гистамина в лимфе по сравнению с показателями у интактных животных увеличился в 1,4 раза ( $p < 0,001$ ), то в периоде шока (на 21-е сут.) — в 3,3 раза и составил  $2,12 \pm 0,04$  мМ/л ( $p < 0,001$ ). Через 30 мин после шока уровень гистамина снизился до 1,1 мМ/л, что было в 1,7 раза выше показателей, определяемых у интактных животных.

Уровни иммуноглобулинов изменялись по-разному. Так, если на стадии сенсibilизации анафилактического шока (7-е сут.) уровень IgE в крови повышался по сравнению с показателями у интактных животных в 3,5 раза и был равен  $35,61 \pm 0,86$  МЕ/л, то уровень IgG в этом периоде повышался лишь в 1,5 раза. На стадии анафилактического шока (21-е сут.) уровень IgE повышался в 14,7 раза по сравнению с показателями у интактных животных и соста-

вил  $151,17 \pm 1,08$  МЕ/л, тогда как уровень IgG в периферической крови по сравнению с показателями у сенсibilизированных животных снижался до  $6,00 \pm 0,17$  г/л.

В периоде сенсibilизации уровень IgE в лимфе повышался в 3,4 раза по сравнению с показателями у интактных животных и составил  $15,31 \pm 0,61$  МЕ/л. В этом же периоде уровень IgG был в 2 раза меньше и составил  $7,65 \pm 0,38$  г/л. В периоде анафилактического шока уровень IgE в лимфе повышался в 11,2 раза и составил  $50,17 \pm 0,8$  МЕ/л, тогда как уровень IgG, напротив, снижался в 1,4 раза и составил  $4,03 \pm 0,13$  г/л ( $p < 0,001$ ).

При феномене Артюса, относящемся к иммунокомплексным реакциям, уровень иммуноглобулинов изменялся следующим образом. Уровень IgG в крови и лимфе животных повышался, тогда как уровень IgE, напротив, снижался. Так, в периоде сенсibilизации феномена Артюса (5-е сут.) уровень IgE в крови повышался в 1,65 раза, а уровень IgG — в 1,8 раза по сравнению с интактными животными

( $p < 0,001$ ). В периоде феномена Артюса уровень IgE в крови повышался в 1,6 раза по сравнению с интактными животными и был равен  $16,56 \pm 0,63$  МЕ/л ( $p < 0,001$ ). Уровень IgG повышался в 4,3 раза и составил  $23,13 \pm 0,72$  г/л ( $p < 0,001$ ).

На 5-е сут. сенсibilизации феномена Артюса уровни IgE и IgG в лимфе повышались по сравнению с показателями у интактных животных соответственно в 2,6 и 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), а уровень гистамина — в 1,1 раза ( $p < 0,05$ ). На 25-е сут. сенсibilизации уровень IgE в лимфе составил  $8,32 \pm 0,33$  МЕ/л, IgG —  $15,07 \pm 1,04$  г/л, а содержание гистамина составило  $1,70 \pm 0,02$  мМ/л ( $p < 0,001$ ). Уровень IgE был умеренно повышенным, как в периоде сенсibilизации, так и в периоде феномена Артюса, но менее выражено в сравнении с концентрацией IgG. В периоде феномена Артюса отмечалось значительное повышение уровня IgG, более выраженное в крови, чем в лимфе. Концентрация гистамина повышалась в периоде феномена Артюса больше в крови, чем в лимфе.

Таблица

Уровни иммуноглобулинов E и G и гистамина в крови и лимфе при анафилактическом шоке и феномене Артюса (M  $\pm$  m) (max-min), n = 27

Показатели	Анафилактический шок (n = 9)			
	В крови		В лимфе	
	7-е сут. сенсibilизации	21-е сут. сенсibilизации	7-е сут. сенсibilизации	21-е сут. сенсibilизации
IgE, МЕ/л	$35,61 \pm 0,85^*$ (32,0–39,0)	$151,17 \pm 1,08^*$ (148,0–155,0)	$15,31 \pm 0,61^*$ (13,0–17,0)	$50,17 \pm 0,8^*$ (48,0–53,0)
IgG, г/л	$8,06 \pm 0,39^*$ (6,0–10,0)	$6,00 \pm 0,17^*$ (5,2–6,8)	$7,65 \pm 0,38^*$ (6,3–9,0)	$4,03 \pm 0,13^*$ (3,2–5,0)
Гистамин, мМ/л	$0,79 \pm 0,04^*$ (0,65–0,95)	$1,89 \pm 0,06^*$ (1,65–2,2)	$0,90 \pm 0,02^*$ (0,8–0,99)	$2,12 \pm 0,04^*$ (1,98–2,3)
Показатели	Феномен Артюса (n = 9)			
	В крови		В лимфе	
	5-е сут. сенсibilизации	25-е сут. сенсibilизации	5-е сут. сенсibilизации	25-е сут. сенсibilизации
IgE, МЕ/л	$17,1 \pm 1,12^*$ (12,0–22,0)	$16,56 \pm 0,63^*$ (14,0–20,0)	$12,05 \pm 0,38^*$ (10,2–13,5)	$8,32 \pm 0,33^*$ (7,0–9,0)
IgG, г/л	$9,46 \pm 0,24^*$ (8,5–10,5)	$23,13 \pm 0,72^*$ (20,0–26,0)	$6,14 \pm 0,35^*$ (3,0–5,7)	$15,07 \pm 1,04^*$ (10,0–16,8)
Гистамин, мМ/л	$0,65 \pm 0,04^{\wedge}$ (0,49–0,8)	$1,75 \pm 0,05^*$ (1,5–1,95)	$0,72 \pm 0,02^{\wedge}$ (0,65–0,79)	$1,70 \pm 0,02^*$ (1,65–1,81)
Показатели	Интakтные животные (n = 9)			
	В крови		В лимфе	
IgE, МЕ/л	$10,26 \pm 0,40$ (8,0–12,0)		$4,48 \pm 0,35$ (3,0–6,0)	
IgG, г/л	$5,39 \pm 0,53$ (3,0–8,0)		$2,92 \pm 0,13$ (2,3–3,5)	
Гистамин, мМ/л	$0,49 \pm 0,04$ (0,3–0,65)		$0,65 \pm 0,02$ (0,56–0,79)	

Примечание. Достоверный интервал по сравнению с интактной группой животных при: \* $p < 0,001$ ;  $\wedge p < 0,05$

В периоде сенсibilизации феномена Артюса на месте инъекции отмечались сначала гиперемия, а затем инфильтративное воспаление. На 20—25 сутки сенсibilизации (период феномена Артюса) в месте инъекции наблюдалась окруженная некрозом гиперемия ткани. У некоторых животных некроз занимал большую часть участка, у других наблюдалась только гиперемия.

В условиях *in vitro* показана возможность высвобождения медиаторов аллергии из клеток-мишеней, вызванного анти-IgG антителами или IgG-аллоантителами. Высвобождение медиаторов в этих случаях опосредовано рецепторами к Fc-фрагменту IgG и относится к неспецифическим цитотоксичным энергозависимым процессам [7].

Известно, что при взаимодействии с аллергеном могут образовываться иммунные комплексы, содержащие реагены (IgE и IgG) или блокирующие IgG-антитела. Показано, что агрегированный IgG, сам по себе не вызывавший высвобождения гистамина из тучных клеток крыс, обладал способностью модулировать секрецию гистамина, вызванную специфическим антигеном анти-IgG сывороткой. Результаты исследований показали, что как агрегированный, так и дезагрегированный IgG человека не вызывали высвобождения гистамина из базофилов здоровых лиц в концентрации 3—333 мкг/мл [(2.8) 2,8].

Полученные данные позволяют предположить, что в условиях *in vivo* иммунные комплексы, содержащие агрегированный антигеном IgG, могут, как высвобождать медиаторы аллергии из базофилов, так и модулировать опосредованное IgE высвобождение гистамина из клеток-мишеней аллергии [9, 10]. В наших экспериментах гистамин высвобождался в ответ на введенную в организм лошадиную сыворотку и зависел не от дозы, а от пути введения антигена.

### Выводы

1. При экспериментальном анафилактическом шоке наблюдается повышение уровня IgE и снижение уровня IgG. Данное повышение уровня IgE более выражено в крови, чем в лимфе, что связано с выделением IgE непосредственно в кровь.

2. При феномене Артюса, относящемся к иммунокомплексным реакциям, отмечается повышение уровня IgG и снижение уровня IgE, более выраженное в крови, чем в лимфе.

3. Концентрация гистамина повышается, как при анафилактическом шоке, так и при феномене Артюса, но более выражено при анафилаксии, и более выражено в крови, чем в лимфе.

4. Применение антигистаминных препаратов эффективнее при атопических реакциях, чем при иммунокомплексных, в случае которых секреция гистамина менее выражена.

### Список литературы

1. Алиев С.Д. Роль некоторых микроэлементов в процессе высвобождения гистамина из тучных клеток крыс. *Интернациональный журнал по иммунореабилитации*. 1998; 8: 609.

2. Гушин И.С., Зебрев А.И., Алешкин В.А., Порошина Ю.А. Опосредованное IgG высвобождение гистамина из базофилов человека. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 1983; 4: 18-21.

3. Корниенко А.А., Куликовский Н.Н., Сорокатый А.Е. Катетеризация грудного протока в эксперименте. *Актуальные вопросы топографической анатомии и оперативной хирургии*. М., 1977; 1: 22-6.

4. Прозоровский Н.С., Порошина Ю.А. Опосредованная активацией тучных клеток индукция *in vivo* гистамин высвобождающей активности мононуклеарных клеток периферической крови при атопии. *Иммунология*. 2002; 2: 63-5

5. Алиев С.Д., Тагдиси Д.Г., Исмаилов Т.А. О роли микроэлементов в иммунных механизмах анафилактических реакций. *Материалы III национальной конференции по иммунологическим, иммунопатологическим и аллергическим проблемам*. Баку, 2004: 167.

6. Алиева Т.Р. Определение уровня серотонина и иммуноглобулинов E, G в крови и лимфе при экспериментальных анафилактическом шоке и феномене Артюса. *Международный медицинский журнал*. 2010; 11(2):72-5.

7. Просекова Е.В., Деркач В.В., Шестовская Т.Н. и др. Цитокиновый профиль и динамика синтеза IgE при аллергических заболеваниях у детей. *Иммунология*. 2010; 3: 140-3.

8. Ishizaka K. Antibodies: Prot. Destr. and Regul. Role. *9th Int. Conv. Immunol. Amnerst*. N.Y., June 25-28, 1984, Basel, 1985, p. 266-74.

9. Свищевская Е.В., Алексеева Л.Г., Марченко А.М. и др. Снижение продукции IgE рекомбинантными пептидами из основных белков аллергенов. *Иммунология*. 2006; 2: 91-7.

10. Свищевская Е.В., Шевченко М.А., Алексеева Л.Г., Матушевская Е.В. и др. Продукция IgG и цитокинов у больных атопическим дерматитом. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2005; 1: 40-5.

Поступила 23.01.15

### References

1. Aliev S.D., Role of some microelements in the process of production of histamine by mast cells of rats. *International journal of immunorehabilitation*, 1998; 8: 609. (in Russian)

2. Gushchin I.S., Zebrev A.I., Aleshkin V. A, Poroshina Y.A. The mediated IgG liberation of histamine from the human basophiles. *Pathological physiology and experimental therapy*. 1983; 4: 18-21. (in Russian)

3. Kornienko A.A., Kulikovskiy N.N., Sorokatiy A.E. Catheterization of thoracic duct in experiment. Actual questions of topographical anatomy and operative surgery, M, 1977, №1: 22-6. (in Russian)

4. Prozorovskiy N.S., Poroshina y.A. The mediated activation of mast cells induction *in vivo* histamine liberating activity of mononuclear cells of peripheral blood at the atopy. *Immunology*. 2002; 2:63-5.



5. Aliev S.C., Tagdisi D.G., Ismailov T.A. About a role of microelements in the immune mechanisms of the anaphylactic reactions. *Materials of III national conference on immunological immunopathological and to allergic problems*. Baku, 2004: 167. (in Russian)

6. Alieva T.R. Definition of level of serotonin, IgE and IgG in blood and a lymph at the experimental anaphylactic shock and Artyus phenomenon. *The International Journal of medicine*. 2010; 11(2): 72-5. (in Russian)

7. Prosekova E.V., Derkach V.V., Shestovsky T.N. et al. The cytokine profile and dynamics of synthesis of IgE at the allergic diseases at children. *Immunology*. 2010; 3: 140-43. (in Russian)

8. Ishizaka K. Antibodies: Prot. Destr. and Regul. Role. *9<sup>th</sup> Int. Conv. Immunol. Amnerst*, N.Y., June 25-28, 1984, Basel, 1985, p. 266-74.

9. Svirshchevskaya E.V., Alekseeva L.G., Marchenko A.M., et al. Decrease in production of IgE with recombinant peptides from the basic proteins of allergens. *Immunology*. 2006; 2: 91-7. (in Russian)

10. Svirshchevskaya E.V., Shevchenko of M.A, Alekseeva L.G., Matushevskaja E.V., et al. Production of IgG and cytokines at patients with atopic dermatitis. *Bulletin of dermatology and venereology*. 2005; 1: 40-5. (in Russian)

Received 23.01.15

**Сведения об авторах:**

Аллахвердиева Л.И., доктор мед. наук, проф., курс клинической аллергологии и иммунологии, e-mail: allah-verdiyeva-lala@rambler.ru